Aus dem Physiologischen Institut
Lehrstuhl I
der Universität Düsseldorf
Leiter: Professor Dr. W. Lochner †

Einfluß von Pyruvat auf den Glucose-Stoffwechsel und die Ventrikelfunktion isolierter hypoxisch perfundierter Meerschweinchenherzen

DISSERTATION
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
Der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf

vorgelegt von
Heinrich Ballarin

1984

UNIV.
LEIDEN
NED.

Aus dem Physiologischen Institut
Lehrstuhl I
der Universität Düsseldorf
Leiter: Professor Dr. W. Lochner †

Einfluß von Pyruvat auf den Glucose-Stoffwechsel und die Ventrikelfunktion isolierter hypoxisch perfundierter Meerschweinchenherzen

DISSERTATION
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
Der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf

vorgelegt von
Heinrich Ballarin

1984

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf

Der Dekan
der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf
gez.: Prof. Dr. Hopf

Referent
gez.: Prof. Dr. Thämer

Korreferent
gez.: Prof. Dr. G. Arnold

Inhaltsverzeichnis

		Seite
1.	Einleitung	1
2.	Methodik	3
3.	Ergebnisse	8
4.	Diskussion	10
5.	Zusammenfassung	16
6.	Literatur	17

1. Einleitung

Die Verminderung der Sauerstoffversorgung des Herzmuskels bewirkt im Myokardstoffwechsel eine Verschiebung von oxidativer zu anoxidativer Bildung von Energie. Wieweit der anoxidative Stoffwechsel den myokardialen Energiebedarf decken kann, hängt u.a. von der innerhalb der anoxidativen Glykolysekapazität erreichbaren Glykolyserate ab.

Glykolyseraten, wie sie in vitro gefunden wurden, konnten niemals in intakten Warmblüterherzen beobachtet werden. Obwohl der glykolytische Fluß in ischämischen und anoxischen Herzen stimuliert ist (Park et al., 1961; Regen et al.,1964), reicht der entsprechend beschleunigte anoxidative Energiegewinn nicht aus, um ein Herzversagen zu verhindern. Offenbar gibt es Faktoren, die die anaerobe Glykolyserate im Herzmuskel hemmen (Opie,1968).

Als eine der Ursachen für diese Hemmung wird eine Zunahme des reduzierten Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid (NADH)-Gehaltes des Herzmuskels diskutiert, der Folge eines Sauerstoffmangels ist (Opie,1968;Rovetto et al., 1975; Williamson,1966). NADH ist Träger von Reduktionsäquivalenten, die unter Sauerstoffmangel vermehrt gebildet werden.

Die Lactatdehydrogenase (LDH) setzt in Abhängigkeit u.a. vom Pyruvatangebot Reduktionsäquivalente unter Bildung von Laktat um, welches bei erhaltener Koronarperfusion in weiten Konzentrationsbereichen die Zelle verlassen kann.

Gelänge es, der Herzmuskelzelle Reduktionsäquivalente zu entziehen, hätte dieses möglicherweise eine Glykolysebeschleunigung zur Folge. Dazu könnte eine Erhöhung des Pyruvatangebotes dienen, welches über einen vermehrten LDH-Umsatz eine Erhöhung der Laktatproduktion bewirken könnte und eine vermehrte Ausschwemmung von Reduktionsäquivalenten zur Folge hätte.

Zweck dieser Studie war es zu prüfen, ob durch ein Pyruvatangebot an den Herzmuskel eine Erhöhung der Glykolysegeschwindigkeit unter Hypoxie erreicht werden kann. Die Versuche fanden an perfundierten isolierten Meerschweinchenherzen statt, die Herzarbeit verrichteten. Als Hypoxiegrade wurden eine mäßige und eine stärkere Hypoxie gewählt, um am arbeitenden Herzen den oxidativen Energiestoffwechsel zugunsten des anoxidativen zu verschieben. Als Stoffwechselgrößen wurden der Sauerstoffverbrauch und die Laktatabgabe der Herzen bestimmt. Als Meßgrößen der Mechanik wurden im linken Ventrikel der Druck und die Druckanstiegsgeschwindigkeit (dp/dt) gemessen.

2. Methodik

Als Versuchstiere dienten Meerschweinchen männlichen Geschlechts mit einem Gewicht zwischen 5oo bis 65o g. Bis zum Versuchsbeginn wurde die Futteraufnahme den Tieren freigestellt.

Ca. 1o Minuten nach Narkotisierung durch intraperitoneale Injektion von Urethan (1,5 g/kg Körpergewicht) wurden die Tiere mit einer Atempumpe nach Schuler über eine intratracheale Kanüle mit Sauerstoff beatmet.

Die Präparation der Herzen wurde nach der Methode von Langendorff durchgeführt, so daß die Koronargefäße nach Einbinden einer Kanüle in die Aorta ascendens mit der Perfusionslösung durchströmt wurden. Die beiden Hohlvenen wurden ligiert. Die Herzen wurden aus dem Thorax herausgetrennt und in einen Perfusionsapparat eingebracht.

Als Perfusat diente eine laktatfreie Krebs-Henseleit-Lösung, die 1o mMol/l Glukose enthielt und der je nach Versuchsbedingung 1,75 mMol/l Pyruvat zugesetzt waren. Diese Lösung wurde in einem Vorratsgefäß mit einem Gasgemisch durchströmt, das 5% CO_2 und in unterschiedlichen Konzentrationen N_2 und O_2 enthielt. Der koronare Perfusionsdruck wurde konstant gehalten. Dies geschah mittels eines offenen Rohres, das das nicht gelöste überschüssige Gasgemisch aus dem Vorratsgefäß ableitete, und dessen Eintauchtiefe in einem wassergefüllten Behälter den Druck einregulierte. Mit einem Druckaufnehmer (Statham P23BB), der an die Aortenkanüle angeschlossen war, wurde der Perfusionsdruck gemessen.

Das gesamte Perfusionssystem wurde auf einer konstanten Temperatur von 38°C gehalten. Der Druck im linken Ventrikel wurde über eine Kanüle registriert, die durch die Herzspitze in den linken Ventrikel eingestochen und mit einem Druckaufnehmer (Statham P23BB) verbunden wurde. Die Herzfrequenz wurde durch einen externen Schrittmacher konstant gehalten, dessen Rechteckimpulse (5 mV, 5 ms) zu zwei Elektroden geleitet wurden, die jeweils an den Herzohren befestigt waren.

Der koronarvenöse Ausstrom tropfte über einen Katheter, der in die rechte A. pulmonalis vorgeschoben und eingebunden war, in einen Trichter und wurde mit einem elektromagnetischen Flußmesser bestimmt. Ein Teil des Perfusats (2,5 ml/min) wurde aus der Aortenkanüle und dem rechten Ventrikel mit einer Pumpe abgesaugt und an Platinelektroden nach Gleichmann und Lübbers vorbeigezogen, um den arteriellen und koronarvenösen Sauerstoffpartialdruck (pO_2) fortlaufend zu messen. Als Absorptionskoeffizient für Sauerstoff in Wasser bei Zusatz von Salzen wurde ein Wert von α = 0,02275 zugrundegelegt (Sendroy, 1934). Aus der arteriovenösen Differenz für den pO_2 und den Koronarfluß wurde die Sauerstoffaufnahme berechnet. Als weitere Stoffwechselgröße wurde der Laktatgehalt im koronarvenösen Perfusat enzymatisch gemessen (Bergmeyer,1962). Aus dem koronarvenösen Laktatgehalt und dem Koronardurchfluß wurde die Laktatabgabe berechnet.

Nach Beendigung eines jeden Versuches wurde das Trockengewicht der Herzen nach 24-stündiger Lagerung bei 90°C im Trockenschrank bestimmt. Die Angaben für den Koronardurchfluß, die Sauerstoffaufnahme und die Milchsäureabgabe wurden auf das Trockengewicht bezogen.

Da die Aortenklappen nicht dicht schlossen, gelangte eine geringe Menge des Perfusats in den linken Ventrikel. Das enddiastolische Volumen stieg daher nach dem Anschluß der schlagenden Herzen an das Perfusionssystem so lange an, bis nach dem Gesetz von Frank-Straub-Starling ein systolischer Druck entwickelt wurde, der dem Perfusionsdruck entsprach. Eine weitere enddiastolische Volumenzunahme bewirkte, daß ein geringes Volumen ausgeworfen wurde. Nach kurzer Zeit stellte sich ein Gleichgewicht zwischen zufließendem und ausgeworfenem Volumen ein. An nicht schlagenden Herzen beträgt dieses Shunt-Volumen nach eigenen Messungen 1 bis 3 ml in der Minute. Am schlagenden Herzen war das Shunt-Volumen kleiner, da sich ein Druckgradient nur während der Diastolendauer aufbauen konnte. Somit leisteten die Herzen vorwiegend eine isovolumetrische Arbeit und nur eine sehr geringe Druck-Volumen-Arbeit.

Folgende Meßgrößen wurden fortlaufend registriert auf einem 8-Kanal-Direktschreiber (Beckmann Dynograph R):

- Druck im linken Ventrikel
- Druck im linken Ventrikel mit fünffacher Empfindlichkeit und elektronischer Begrenzung bei 2o mmHg
- Druckanstiegsgeschwindigkeit dp/dt im linken Ventrikel
- koronarer Durchfluß
- Herzfrequenz
- arterieller und koronarvenöser pO_2
- Perfusionsdruck

Die Meßwerte sind als Mittelwert $\pm$ Standardabweichung der Mittelwerte angegeben. Die statistische Auswertung erfolgte mit dem Wilcoxon-Test für Paardifferenzen.

Tab. 1: Mechanik und Stoffwechsel des isolierten Meerschweinchenherzens unter aeroben und hypoxischen Bedingungen und Pyruvatzusatz unter der Hypoxie.

Perfusat: Krebs-Henseleit-Lösung mit 10 mMol Glukose, Perfusatzusatz 1,75 mMol Pyruvat. Perfusionsdruck 60 mmHg. P_{LVS} und P_{LVD} = systolischer bzw. diastolischer Druck im linken Ventrikel dp/dt_{max} = maximale Druckanstiegsgeschwindigkeit im linken Ventrikel, F_{KO} = Koronarfluß, $\dot{V}_{O_2}$ = Sauerstoffaufnahme, $\dot{V}_{LA}$ = Laktatabgabe, pO_2ven = Sauerstoffdruck im koronarvenösen Perfusat. Anzahl der Versuchstiere = 9. Die Werte des Herzstoffwechsels und der Koronarfluß sind auf 1 g Trockengewicht bezogen. Mittelwerte und Standardabweichung der Mittelwerte jeweils 5 Minuten vor Perfusatwechsel.

Perfusat		Krebs, 95% O_2	p	Krebs, 53% O_2	p	Krebs, 53% O_2, 1,75mMol Pyruvat	p	Krebs, 53% O_2	p	Krebs, 95% O_2
P_{LVS}	mmHg	60 ± 1	--	59 ± 1	--	59 ± 1	--	59 ± 1	--	60 ± 1
P_{LVD}	mmHg	2,9 ± 0,4	--	3,0 ± 0,4	--	2,9 ± 0,5	0,1	3,2 ± 0,7	--	3,0 ± 0,5
dp/dt_{max}	mmHg/s	1833 ± 100	--	1766 ± 71	--	1800 ± 71	--	1777 ± 83	--	1844 ± 88
F_{KO}	ml/min x g	33,5 ± 2,6	<0,01	52,8 ± 5,2	--	54,0 ± 5,4	0,01	53,7 ± 5,4	<0,01	38,6 ± 2,0
pO_2ven	mmHg	216 ± 50	<0,01	129 ± 21	<0,01	165 ± 21	0,01	129 ± 25	<0,01	247 ± 34
$\dot{V}_{O_2}$	µmol/min x g	20,0 ± 0,9	<0,01	17,1 ± 0,9	<0,01	14,8 ± 1,3	0,01	17,6 ± 0,9	<0,01	21,7 ± 1,3
$\dot{V}_{LA}$	µmol/min x g	1,0 ± 0,1	<0,01	14,7 ± 1,4	<0,01	66,7 ± 5,1	0,01	15,9 ± 1,4	<0,01	1,8 ± 0,4

Tab. 2: Mechanik und Stoffwechsel des isolierten Meerschweinchenherzens unter aeroben und hypoxischen Bedingungen und Pyruvatzusatz unter der Hypoxie.

Perfusat: Krebs-Henseleit-Lösung mit 10 mMol Glukose, Perfusatzusatz 1,75 mMol Pyruvat. Perfusionsdruck 60 mmHg. P_{LVS} und P_{LVD} = systolischer bzw. diastolischer Druck im linken Ventrikel dp/dt_{max} = maximale Druckanstiegsgeschwindigkeit im linken Ventrikel, F_{KO} = Koronarfluß, $\dot{V}_{O_2}$ = Sauerstoffaufnahme, $\dot{V}_{LA}$ = Laktatabgabe, pO_2ven = Sauerstoffdruck im koronarvenösen Perfusat Anzahl der Versuchstiere = 10. Die Werte des Herzstoffwechsels und der Koronarfluß sind auf 1 g Trockengewicht bezogen. Mittelwerte und Standardabweichung der Mittelwerte jeweils 5 Minuten vor dem Perfusatwechsel.

Perfusat		Krebs, 95% O_2	p	Krebs, 25% O_2	p	Krebs, 25% O_2, 1,75mMol Pyruvat	p	Krebs, 25% O_2	p	Krebs, 95% O_2
P_{LVS}	mmHg	60 ± 1	< 0,01	47 ± 2	<0,01	57 ± 2	<0,01	44 ± 3	<0,01	60 ± 1
P_{LVD}	mmHg	3,9 ± 0,5	< 0,01	7,7 ± 0,7	<0,01	6,0 ± 0,5	<0,01	8,7 ± 0,6	<0,01	6,0 ± 0,6
dp/dt_{max}	mmHg/s	1850 ± 135	< 0,01	1380 ± 162	<0,01	1720 ± 132	<0,01	1260 ± 207	<0,01	1780 ± 92
F_{KO}	ml/min x g	33,6 ± 3,0	< 0,01	69,0 ± 6,0	--	70,3 ± 8,3	--	68,5 ± 5,9	<0,01	36,6 ± 3,5
pO_2ven	mmHg	191 ± 30	< 0,01	22 ± 2	--	22 ± 2	--	22 ± 3	<0,01	216 ± 27
$\dot{V}_{O_2}$	umol/min x g	21,0 ± 0,9	< 0,01	12,1 ± 0,5	--	12,8 ± 1,1	--	12,2 ± 0,7	<0,01	21,6 ± 1,3
$\dot{V}_{LA}$	umol/min x g	0,8 ± 0,1	< 0,01	25,9 ± 2,6	<0,01	71,3 ± 6,3	<0,01	28,6 ± 2,5	<0,01	1,3 ± 0,3

LEIDEN STAAT

3. Ergebnisse

Zu Beginn der Versuche wurden die Herzen 30 Minuten mit einer Krebs-Henseleit-Lösung perfundiert, die 10 mMol/l Glukose enthielt und mit einem Gasgemisch aus 95% O_2 und 5% CO_2 äquilibriert war. Der Perfusionsdruck betrug bei allen Versuchen 60 mmHg, die Frequenz 180 Schläge pro Minute.

Für die folgenden 30 Minuten wurde das gleiche Perfusat verwendet, das nun jedoch mit einem Gasgemisch äquilibriert war, welches 5% CO_2 und entweder 53% oder 25% O_2 enthielt; der Rest war N_2.

Anschließend waren diesem Perfusat während der Hypoxie 1,75 mMol/l Pyruvat für 20 Minuten zugesetzt.

Die Anfangsbedingung wurde mit gleichem Zeitablauf in umgekehrter Reihenfolge wiederhergestellt.

Kurz vor dem Perfusatwechsel zur schwächeren Hypoxie hatten die Herzen unter Normoxie eine Sauerstoffaufnahme von $20,0 \pm 0,9$ µmol/min x g und eine geringe Laktatabgabe von $1,0 \pm 0,1$ µmol/min x g. In der 25. Minute der schwächeren Hypoxie war die Sauerstoffaufnahme auf $17,1 \pm 0,9$ µmol/min x g ($p < 0,01$) gesunken und die Laktatproduktion stieg auf $14,7 \pm 1,4$ µmol/min x g ($p < 0,01$). Bei der Zugabe des Pyruvats verminderte sich die Sauerstoffaufnahme auf $14,9 \pm 1,3$ µmol/min x g ($p < 0,01$) bei einer Steigerung der Laktatabgabe auf $66,7 \pm 5,1$ µmol/min x g ($p < 0,01$). Die mechanische Aktivität der Herzen ($P_{syst} = 60 \pm 1$ mmHg, $dp/dt_{max} = 1833 \pm 100$ mmHg/s) unter Normoxie änderte sich während der Gesamtversuchsdauer nicht signifikant. Die Änderungen waren reversibel (Tab.1)

In der 25. Minute der stärkeren Hypoxie war die Sauerstoffaufnahme von 21,0 $\pm$ 0,9 µmol/min x g unter Normoxie auf 12,1 $\pm$ 0,5 µmol/min x g ($p < 0,01$) gesunken und die Laktatabgabe stieg von 0,8 $\pm$ 0,1 µmol/min x g auf 25,9 $\pm$ 2,6 µmol/min x g ($p < 0,01$). Die mechanische Aktivität nahm dabei ab, erkennbar sowohl an der Verminderung des entwickelten Ventrikelspitzendruckes von 60 $\pm$ 1 mmHg unter Normoxie auf 47 $\pm$ 2 mmHg ($p < 0,01$), als auch an der Senkung der maximalen Druckanstiegsgeschwindigkeit im linken Ventrikel (dp/dt_{max}) von 1850 $\pm$ 135 auf 1380 $\pm$ 162 mmHg/s ($p < 0,01$). Bei der Zugabe von Pyruvat stieg der linksventrikuläre Spitzendruck auf 57 $\pm$ 2 mmHg ($p < 0,01$) und die maximale Druckanstiegsgeschwindigkeit (dp/dt_{max}) auf 1720 $\pm$ 132 mmHg/s ($p < 0,01$). Die Pyruvatzugabe änderte die Sauerstoffaufnahme der Herzen nicht signifikant. Die Laktatabgabe erhöhte sich auf 71,3 $\pm$ 6,3 µmol/min x g ($p < 0,01$). Auch diese Änderungen waren reversibel. (Tab. 2)

4. Diskussion

Wird das Sauerstoffangebot an den Herzmuskel soweit vermindert, daß die Energieproduktion aus der oxidativen Phosphorilierung den benötigten Energiebedarf nicht deckt, dann besteht im Herzstoffwechsel die Möglichkeit der Bereitstellung anoxidativ gebildeter Energie: Der Glykogenvorrat oder die freie Glukose kann zu Laktat abgebaut werden, und der Bestand an Kreatininphosphat (CP) und ATP kann angegriffen werden. Der Bestand an ATP und CP im Herzmuskel ist so gering, daß auch bei vollständiger Mobilisierung der Energiebedarf unter Anoxie oder Hypoxie nur kurzfristig gedeckt werden kann. Die Bereitstellung der anoxidativen Energie hängt deshalb in erster Linie von der Substratkettenphosphorilierung während der Glykolyse ab.

Die Beschleunigung des Glykolyseflusses, wie sie unter hypoxischen Bedingungen stattfindet, greift die Glykogenbestände an (Rovetto et al.,1973). Der Glykogenvorrat des Meerschweinchenherzens in situ beträgt 13o bis 2oo µmol Glukoseäquivalente je 1 g Trockengewicht (Isselhardt et al.,1965). Aus dem Sauerstoffverbrauch und der Laktatabgabe kann der Hexoseumsatz errechnet werden. Dieser betrug bei der schwächeren Hypoxie 1o, 2 µmol/min x g und bei der stärkeren Hypoxie 15,0 µmol/min x g, da 1 Mol Hexose mit 6 Mol Sauerstoff verbrannt wird und aus 1 Mol Hexose 2 Mol Laktat entstehen. Ohne exogene Hexose wäre der Glykogenvorrat der Herzen während der Hypoxie nach etwa 15 bis 2O Minuten erschöpft. Bei anoxischen Rattenherzen nimmt die anaerobe Glykolyserate schon weit vor der Erschöpfung der Glykogenbestände ab (Cornblath et al.,1963). Somit kann ange-

nommen werden, daß zum Zeitpunkt der Messung die Glykolyseraten nach Umschalten auf die Hypoxie hauptsächlich aus exogener Glukose bestritten wurden.

Unter der schwächeren Hypoxie betrug die Summe aus der aerob und anaerob gewonnenen ATP-Menge 123,0+µmol/g x min, errechnet aus den Werten für die Sauerstoffaufnahme und für die Laktatabgabe. Diese ATP-Produktion entspricht etwa derjenigen, die unter Normoxie gewonnen wurde und 127,7 µmol/g x min betrug. Obwohl die Sauerstoffaufnahme sank, änderte sich die mechanische Ventrikelfunktion der Herzen nicht. Der zusätzliche Energiebeitrag aus der anoxidativen Glykolyse konnte die Energiebilanz und damit die mechanische Leistung auf der alten Höhe halten.

Als Berechnungsgrundlage für die Energieausbeute wurde zugrunde gelegt: Je Mol Glukoseabbau werden 38 Mol energiereiches Phosphat gebildet. 6 Mol O_2 oxidieren 1 Mol Glukose. Daraus folgt:
Der P/O-Quotient beträgt $\frac{38}{6 \times 2} = 3,1\overline{6}$.

Auffallend bei der mittleren Hypoxie ist eine Verschiebung zum anaeroben Stoffwechsel, obwohl eine Ausschöpfung des O_2-Angebotes nicht stattgefunden hat. Um eine ausreichende Herzarbeit bei der Senkung des O_2-Angebotes zu gewährleisten, ist das Herz auf eine coronare Flußerhöhung angewiesen. Tatsächlich kommt es zu einer Flußzunahme, allerdings fällt sie höher aus als es rechnerisch bei einer O_2-Ausschöpfung bis zum kritischen pO_2^{ven} zu erwarten wäre.

Dies könnte mit einer Ödemausbildung des Herzmuskels zusammenhängen, wie sie bei längerdauernden Hypoxien beschrieben worden sind. Dies führt zu einer Verlängerung der Diffusionsstrecke für den Sauerstoff an den intra-

zellulären Raum, so daß das O_2-Angebot für den Herzstoffwechsel niedriger ausfällt, als es dem ven pO_2 unter physiologischen Bedingungen entspräche.

Unter der Pyruvatzugabe sank die Sauerstoffaufnahme der Herzen um 3,2 µmol/g x min. Da die mechanische Aktivität der Herzen sich wiederum nicht änderte, fand offenbar eine zusätzliche Verschiebung der Energiebereitstellung zugunsten des anoxidativen Stoffwechsels statt, d.h. die Glykolyse wurde beschleunigt. Aus der Minderung der Sauerstoffaufnahme wäre eine Zunahme der Laktatabgabe um 2o,3 µmol/g x min zu erwarten gewesen. Tatsächlich stieg V_{La} auch an, aber mehr als erwartet. (Tab. 1)

Während der stärkeren Hypoxie war die auf diese Weise errechnete Energiebilanz unausgeglichen: Die Summe aus der aeroben und anaeroben ATP-Bildung betrug 1o2,5 µmol/g x min und war um 31,3 µmol/g x min kleiner als während der Normoxie. Dementsprechend nahm die mechanische Aktivität ab.

Unter der Pyruvatzugabe stieg die mechanische Aktivität der Herzen an, obwohl die Sauerstoffaufnahme nicht zunahm. Es mußte also vermehrt anaerob gebildete Energie bereitgestellt worden sein. Bei Ausgleich des Energiedefizits über eine Beschleunigung der Glykolyse müßte die Laktatabgabe auf 52,7 µmol/g x min gestiegen sein. Wie bei der leichten Hypoxie stieg die Laktatabgabe auch an, war aber um 18,6 µmol/g x min höher als erwartet. (Tab. 2)

Die maximalen Enzymaktivitäten des Embden-Meierhof-Weges betragen in vitro 5o bis 1oo µmol/g x min Hexose (Opie et al., 1968). Die maximalen Glykolseraten bei anoxischen Rattenherzen betragen etwa 16 µmol/g x min (Williamson, 1966). Obwohl der Glykolysefluß in anoxischen Herzen stimuliert ist (Parker et al.,1961; Regen et al., 1964) reicht diese Rate nicht aus, um mehr als etwa maxi-

mal 15% derjenigen ATP-Menge zu bilden wie im Verbleich zu ausreichend mit Sauerstoff versorgten Herzen (Gudbjarnason,1971; Kübler et al.,197o).

Der langsamste Schritt in der Glykolyse des Herzmuskels liegt unter anoxidativen und ischämischen Bedingungen bei der Glycerin-3-phophat-Dehydrogenase (GAP-DH) (Newsholme and Start,1977; Rovetto et al.,1975). Bei der Katalyse des Glycerinaldehyd-3-phosphat zu 1,3-Diphosphoglycerat findet eine Wasserstoffübertragung auf NAD statt. In-vitro-Messungen ergaben, daß das Produkt NADH die GAP-DH stark hemmt. Die Inhibitorkonstante K_i ist entsprechend sehr niedrig und beträgt O,3 µmol (Furfine and Velick,1965). Der cytosolische NADH-Gehalt könnte daher an der Regulation der Umsatzrate der GAP-DH und damit der Glykolysegeschwindigkeit beteiligt sein. Eine Zunahme des NADH-Gehaltes im Cytosol hätte eine Verminderung der Glykolysegeschwindigkeit zur Folge und umgekehrt.

Obowohl mit zunahmendem Gewebslaktat die Laktatabgabe steigt, da Laktat in weiten Konzentrationsbereichen die Herzmuskelzelle verlassen kann, nimmt der Laktatgehalt des Herzgewebes unter Anoxie auf das 2-3fache zu, der gleichzeitig gemessene Pyruvatgehalt ist im Vergleich mit normoxischen Herzen vermindert (Rovetto et al.,1973). Folglich ist der Laktat/Pyruvat-Quotient erhöht. Aus der Anwendung des Massenwirkungsgesetzes bedeutet dies eine Erhöhung des NADH/NAD-Quotienten. Da die Summe der oxidierten und reduzierten Form von NAD in der Herzmuskelzelle annähernd konstant bleibt, nimmt daher der Gewebsgehalt von NADH bei zunehmender Verschiebung zur anaeroben Glykolyse zu.

Die während der Glykolyse nicht zur Laktatproduktion verbrauchten Reduktionsäquivalente müssen über einen Malat-Aspartat-Zyklus in den mitochondralen Raum überführt werden, um der oxidativen Phosphorilierung zur Verfügung zu stehen, denn NAD kann die mitochondrale Membran nicht überwinden (Safer, B.,1975). Die Transportrate ist abhängig vom NADH-Konzentrationsgradienten zwischen mitochondralem und cytosolischem Raum. Da unter hypoxischen und anoxischen Bedingungen der mitochondrale NADH-Gehalt steigt (Rovetto et al.,1975), ist eine Kumulation des cytosolisch gebildeten NADH wahrscheinlich. Eine Zunahme des cytosolischen NADH-Gehaltes wirkt dann zugleich fördernd auf den LDH-Umsatz und hemmend auf die GAP-DH. Daraus resultiert ein Grenzwert der anaeroben Glykolyse, der unterhalb ihrer Kapazität liegt.

Pyruvat kann die Herzmuskelzellmembran permeieren, der K_m-Wert beträgt für den Übergang des Pyruvats in das Zellinnere von Warmblüterherzen etwa 2000 µmol (Denton and Halestrap,1975). Die Umsatzkapazität des LDH ist im Vergleich zu den übrigen Enzymumsatzkapazitäten der Glykolyse mit ca. 384 µmol/g x min Feuchtgewicht (Newsholme and Start,1977) hoch.

Durch eine Erhöhung des cytosolischen Pyruvatangebotes, welches nicht aus der Glykolyse stammt, wird ein zusätzlicher Reaktionsdruck in Richtung auf die Laktatproduktion erzeugt. Der LDH-Umsatz ist dann nicht mehr durch das verfügbare Pyruvatangebot aus der Glykolyse begrenzt, sondern es wird sich ein neues Reaktionsgleichgewicht einstellen, bei dem vermehrt Reduktionsäquivalente oxidiert werden können. Durch die dabei erfolgende Minderung des cytosolischen reduzierten NAD-Gehaltes könnte die Hemmung auf die GAP-DH gesenkt werden. Diese stellt den Herzen vermehrt anoxidativ gebildete Energie zur Verfügung.

Sowohl unter der schwächeren als auch unter der stärkeren Hypoxie stieg die Laktatabgabe während des Pyruvatangebots mehr an, als es rechnerisch zu erwarten war. Es müssen daher mehr Reduktionsäquivaltente für den LDH-Umsatz zur Verfügung gestanden haben, die nicht aus der anaeroben Glykolyse stammen, da bei dieser die NADH-Bildung und deren Verbrauch ausgeglichen ist. Hier kämen vor allem die in den Mitochondrien gebildeten Reduktionsäquivalente in Betracht, welche in den cytosolischen Raum gelangen und zusätzlich für die Laktatbildung zur Verfügung ständen. Demnach wäre der Transport von Reduktionsäquivaltenten nicht nur vom cytosolischen in den mitochondralen Raum sondern auch umgekehrt möglich.

Obwohl die Glykolyseraten während der schwächeren Hypoxie ausreichten, um eine ungestärte Herzarbeit aufrecht zu erhalten, bewirkt das Pyruvatangebot eine Verminderung der Sauerstoffaufnahme der Herzen. Da an isolierten Herzmitochondrien die Atmung durch den extramitochondralen ATP/ADP-Quotienten kontrolliert wird (Holian et al.,1976), könnte dieser sauerstoffsparende Effekt durch eine im Cytosol vermehrt statfindende anaerobe ATP-Bildung als Folge einer Glykolysebeschleunigung verursacht werden.

Es ist also möglich, an Herzen, die infolge einer Verminderung der Sauerstoffversorgung gezwungen werden, vermehrt anoxidative Energie bereitzustellen, durch ein exogenes Pyruvatangebot den Beitrag an anaerob gebildeter Energie zu vergrößern.

5. Zusammenfassung

Isolierte, mit konstanter Frequenz schlagende Meerschweinchenherzen wurden nach Langendorff mit einer Krebs-Henseleit-Lösung, die 10 mMol Glukose enthielt, hypoxisch perfundiert und die Wirkung von 1,75 mMol Pyruvat auf Glukosestoffwechsel und Ventrikelfunktion geprüft.

Das Pyruvatangebot erhöhte die Laktatabgabe der Herzen.

Reichte das anoxidative Energieangebot nicht aus, um eine ungestörte Herzarbeit aufrecht zu erhalten, verbesserte das Pyruvatangebot die mechanische Aktivität der Herzen, ohne die Sauerstoffaufnahme zu erhöhen.

War der anoxidative Energiegewinn ausreichend, um eine ungestörte Herzarbeit aufrecht zu erhalten, senkte das Pyruvatangebot die Sauerstoffaufnahme der Herzen.

Diese Änderungen wurden auf eine Zunahme der anoxidativen Energiebereitstellung durch die Pyruvatzugabe zurückgeführt, deren Ursache eine Zunahme des glykolytischen Flusses ist. Es wurde diskutiert, daß durch das Pyruvatangebot dem Herzmuskel vermehrt Reduktionsäquivalente entzogen werden und dies zu einer Glykolysebeschleunigung führen kann.

6. Literatur

Bernt, E., Bergmeyer, H.U., Möllering, H. : in: H.U. Bergmeyer, Methoden der enzymatischen Analyse, 4o7 (Weinheim 1962)

Bloch, W., MacQuarcie, R.A., Bernhard, S.A. : The nucleotide and acyl group content of native rabbit muscle GAP-DH J.Biol.Chem. 246,78o (1971)

Bremer, J., Davis, E.J. : Studies on the active transfer of reducing equivalents into mitochondrial via the malat-aspartat-shuttle. Biochim.Biophys.Acta 376,387 (1975)

Cornblath, M., Randle, P.J., Parmeggiani, A., Morgan, H.E. : Regulation of glycogenolysis in muscle; effects of glucagon and anoxia on lactate production, glycogen content, and phosphorylase activity in the isolated perfused rat heart. J.Biol.Chem. 283,1592-1597 (1963)

Denton, R.M., Halestrap, A.P. : Regulation of pyruvat metabolism in mammalian tissues. Essays Biochem. 1975 15:37-77 (199 ref.)

Evans, J.R., Opie, L.H., Renold, A.E. : Pyruvate metabolism in the perfused rat heart. Am.J.Physiol. 2o5, 971-976 (1963)

Furfine, C.S., Velick, S.F. : The acyl-enzyme intermediate and the kinetic mechanism of the glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase reaction. J.Biol.Chem. 24o,844 (1965)

Gleichmann, U., Lübbers, D.W. : Measurement of the oxygene tension in gases and fluids with the Pt-electrode with special reference to measurement in the blood. Pflügers Arch. 271,431 (196o)

Gudbjarnason, S. : Acute alternative in energetics of ischemic heart muscle. Cardiology 56,232 (1971)

Holian, A., Owen, CH.S., Wilson, D.F. : Control of respiration in isolated mitochondria: Quantitative evaluation of the dependence of respiratory rates on ATP, ADP and P_i. Arch.Biochem.Biophys.181,164 (1977)

Isselhard, W., Merguet, H., Aengenvoort, H., Schmeerbauch, D., Berghoff, W. : Vergleich des Herzstoffwechselns bei verschiedenen Methoden des künstlichen Herzstillstandes. Pflügers Arch. 286,336 (1965)

Krebs, H.A., Henseleit, K. : Untersuchungen über die Harnstoffbildung im Tierkörper. Z.phys.Chem. 21o,33 (1932)

Kubler, W., Spieckermann, P.G. : Regulation of glycolysis in the ischemic and the anoxic myocardium. J.Mol.Cell.Cardiol. 1,361 (197o)

Liedtke, J.A., Nellis, H.S., Neely, J.R., Huges, G.H. : Effect of treatment with Pyruvat and Trimethamine in experimental myocardial ischemia. Circ.Res. 39,378 (1976)

Newsholme, E.A., Start, C. : Regulation des Stoffwechsels. Verl.Chemie, Weinheim (1977)

Opie, L.H. : Metabolism of the heart in health and desease (Part I) Am.Heart J. 76,685 (1968)

Opie, L.H. : The glucose hypothesis; relation to acute myocardial ischemia. J.Mol.Cell.Cardiol. 1,1o7-115 (197o)

Park, C.R., Morgan, H.E., Henderson, M.J., Regen, D.M., Cadenas, E., Post, R.L. : The regulation of glucose uptake in muscle as studied in the isolated perfused rat heart. Rec.Progr.Horm.Res. 17,493 (1961)

Randle, P.J., Garland, P.B., Hales, C.M., et al. : Interaction of metabolism and the physiological role of insulin. Rec.Progr.Horm.Res. 22,1 (1966)

Randle, P.J., Newsholme, E.A., Garland, P.B. : Regulation of glucose uptake by muscle. 8.Effects of fatty acids, ketone bodies and pyruvat, and of alloxan diabetes and starvation, on the uptake and metabloic fate of glucose in rat heart and diaphragma muscles. Biochem.,J. 93,652-65, (1964)

Regen, D.M., Davis, W.W., Morgan, H.E., Park, D.R. : The regulation of hexokinase and phosphofructokinase activity in heart muscle. J.Biol.Chem. 239,43 (1964)

Rovetto, M.A., Whitmer, S.T., Neely, J.R. : Comparison of the effects of anoxia and whole heart ischemia on carbohydrate utilization in isolated working rat heart. Circ.Res. 32,699 (1973)

Rovetto, M.J., Lamberton, W.F., Neely, J.R. : Mechanism of glycolytic inhibition in ischemic rat hearts. Circ.Res. 37,742 (1975)

Safer, B. : The metabolic significance of the malat-aspartat-cycle in heart. Circ.Res. 37,527 (1975)

Safer, B., Smith, C.M., Williamson, J.R. : Control of the transport of reducing equivalents across the mitochondrial membran in perfused rat heart. J.Mol.Cell.Cardiol. 2,111 (1971)

Safer, B., Williamson, J.R. : Mitochondrial-cytosolic interactions in perfused rat heart. J.Biol.Chem. 248,257o (1973)

Sendroy, J.jr., Dillon, R.T., van Slyke, D.D. : J. Biol. Chem. 1o5,597 (1934)

Williamson, J.R. : Glycolytic control mechanisms. II. Kinetics of intermediate changes during the aerobic-anoxic transition in perfused rat heart. J.Biol.Chem. 214,5o26 (1966)

Lebenslauf

Name:	Heinrich Ballarin
Geburtsdatum:	6. Mai 1947
Staatsangehörigkeit:	deutsch
Familienstand:	verheiratet
Vater:	Maximilian Ballarin, Schreinermeister
Wohnort:	Sternstr. 68 4ooo Düsseldorf 3o Telefon o211-46o252

1953 - 62	Volksschule, Realschule in Düsseldorf
1962 - 65	Lehre als Chemielaborant bei Fa. Henkel & Cie., Düsseldorf Abschlußprüfung
1966 - 67	Berufsaufbauschule, Abschluß: Fachschulreife
1967 - 68	Chemielaborant bei Fa. Henkel & Cie., Düsseldorf
1968 - 71	W.-H. Riehl-Kolleg, Düsseldorf (Institut zur Erlangung der Hochschulreife) Abschluß: Abitur
1971 - 72	Ersatzdienstleistender beim Deutschen Roten Kreuz, Düsseldorf
1972 - 75	F.-Wilhelms-Universität, Bonn Studium der Chemie, Abschluß: Vordiplom
1975 - 81	Universität Düsseldorf Studium der Medizin, Abschluß: Staatsexamen
1978	Promotionsarbeit, Physiologisches Institut der Universität Düsseldorf Dir. Prof. Dr. med. Dr. h.c. W. Lochner +
seit Juni 1981	St. Johannes-Hospital, Duisburg-Hamborn Assistenzarzt, Medizinische Klinik I

Dissertationsdruckerei F. Hansen, Luxemburger Str. 72, 5000 Köln 1, Tel. 445563